华东地区中华蜜蜂六地理种群的遗传多样性及遗传分化

吉 挺, 殷 玲, 刘 敏, 陈国宏*
(扬州大学动物科学与技术学院, 江苏扬州 225009)

摘要:【目的】利用23对微卫星标记对来自于南昌、黄山、桐庐、费县、宜兴、武夷山6个华东地区的中华蜜蜂 *Apis cerana cerana* 种群进行遗传多样性及遗传分化分析。【方法】通过计算多态信息含量、平均杂合度、等位基因数、遗传距离、基因流、*F*-统计量等参数, 评估各中蜂种群遗传多样性和各种群间遗传分化。【结果】各座位的等位基因数为5(A014)至30(AP043)。所有种群均显示较高水平的期望杂合度, 其中, 武夷山中蜂最低, 为0.4280; 南昌中蜂最高, 为0.6329。各中蜂种群间存在极显著的遗传分化, 平均分化系数(*Fst*)为0.344。基于Nei氏遗传距离运用NJ聚类法将6个中蜂种群划分为3类。【结论】华东6个中蜂种群的遗传多样性较高, 遗传分化显著; 分析遗传分化与地理距离的关系发现, 华东6个中蜂种群间的遗传分化与地理距离不存在显著相关。

关键词: 中华蜜蜂; 遗传多样性; 遗传分化; 微卫星遗传标记
中图分类号: Q963 **文献标识码:** A **文章编号:** 0454-6296(2009)04-0413-07

Genetic diversity and genetic differentiation of six geographic populations of *Apis cerana cerana* (Hymenoptera: Apidae) in East China

JI Ting, YIN Ling, LIU Min, CHEN Guo-Hong* (College of Animal Science and Technology, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225009, China)

Abstract:【Aims】The genetic diversity and genetic differentiation of six populations of *Apis cerana cerana* distributed in different geographic areas in East China were surveyed using 23 microsatellite markers.【Methods】Using polymorphism information content (*PIC*), mean heterozygosity (*H*), number of effective alleles, genetic distances, gene flow (*Nm*) and *F*-statistics, we evaluated the genetic diversity and genetic differentiation.【Results】The number of alleles per locus ranged from 5 (A014) to 30 (AP043). All populations showed high-level heterozygosity, the lowest was Wuyishan population (0.4280) and the highest was Nanchang population (0.6329). Significant genetic differentiation was found among the six populations ($P < 0.01$) and the average genetic differentiation coefficient of all the populations was 0.344. Neighbour-joining dendrogrm was constructed based on the Nei's genetic distance, and three main clusters were found.【Conclusions】The genetic diversity and the genetic differentiation of the six populations of *A. cerana cerana* were significant. Through analyzing the correlation between genetic differentiation and geographical distance, we found that genetic differentiation among the six populations of *A. cerana cerana* was not be significantly related to geographical distance.

Key words: *Apis cerana cerana*; genetic diversity; genetic differentiation; microsatellite marker

中华蜜蜂 *Apis cerana cerana* 是我国特有蜜蜂遗传资源, 由于我国地域辽阔, 地貌各异, 经过长期的适应, 形成了多种生态型, 具有丰富的遗传多样性。自20世纪初西方蜜蜂 *Apis mellifera* 引进我国以来, 由于东方蜜蜂在种间竞争上处于劣势, 加之数十年来自然生态条件的不断恶化, 其分布范围逐渐缩小, 部分地区的野生种群减少到濒危程度(杨冠煌, 2005)。中华蜜蜂遗传资源日趋珍贵, 因而研究其群体资源的遗传特性, 并有效地保护这个宝贵的遗传资源具有十分重要的意义。目前对西方蜜

基金项目: 江苏省科技攻关项目(E2007321); 农业部现代蜂产业技术体系项目
作者简介: 吉挺, 男, 1974年生, 江苏东台人, 博士研究生, 讲师, 从事特种经济动物养殖研究, Tel.: 13305275665; E-mail: jiting12@sohu.com
* 通信作者 Author for correspondence, E-mail: ghchen@yzu.edu.cn
收稿日期 Received: 2008-10-22; 接受日期 Accepted: 2009-02-22

蜂资源遗传多样性及遗传分化的研究相对较多(Franck *et al*., 2001；刘艳荷等，2001；Canovas *et al*., 2008)，而对中华蜜蜂遗传多样性的研究特别是分子标记水平上的研究还刚刚起步(姜玉锁等，2007)，微卫星标记作为第 2 代分子遗传标记，具有分布广泛、多态信息含量高、呈共显性遗传及检测快速方便等优点，目前已在畜禽遗传多样性及遗传分化的研究中广泛应用(Weigend and Romanov，2001)，但利用微卫星标记分析中华蜜蜂群体遗传多样性及遗传分化的研究较为少见。本研究利用多态性较好的 23 个微卫星 DNA 标记对我国华东地区 6 个不同地理种群的中华蜜蜂进行检测，不仅分析了各地理种群的遗传多样性，还研究了各地理种群间的遗传分化，初步评价了华东地区中华蜜蜂的群体遗传结构，研究结果可为我国中华蜜蜂遗传特性研究提供基础数据，为我国中华蜜蜂种质资源的合理保护和利用提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　实验材料

实验用中华蜜蜂样本来自我国华东 6 个地区，详细情况见表 1。蜜蜂采集后立即投入无水乙醇杀死并浸泡保存。DNA 提取参照吉挺等(2005)所建立的方法。提取的 DNA 用紫外分光光度计测定其浓度和纯度，－20℃保存备用。

表 1　华东地区中华蜜蜂样本采集情况

Table 1　Collecting data of six populations of *Apis cerana cerana* sampled from East China in this study

种群 Population	采集时间 Collecting date	采集地点 Collecting locality	地理经纬度 Geographic latitude and longitude	采集群数 Number of colonies sampled
南昌中蜂 Nanchang population (NC)	2007-05-22	江西南昌 Nanchang, Jiangxi	31° 22′ N, 119° 49′ E	58
黄山中蜂 Huangshan population(HS)	2007-07-18	安徽黄山 Huangshan, Anhui	29° 57′ N, 118° 14′ E	76
桐庐中蜂 Tonglu population (TL)	2007-07-19	浙江桐庐 Tonglu, Zhejiang	29° 50′ N, 119° 34′ E	35
费县中蜂 Feixian population (FX)	2007-08-20	山东费县 Feixian, Shandong	35° 15′ N, 117° 58′ E	30
宜兴中蜂 Yixing population (YX)	2006-09-28	江苏宜兴 Yixing, Jiangsu	31° 22′ N, 119° 49′ E	81
武夷山中蜂 Wuyishan population (WYS)	2007-04-20	福建武夷山 Wuyishan, Fujian	27° 45′ N, 118° 02′ E	50

1.2　实验方法

1.2.1　微卫星标记的选择：23 对微卫星引物信息列于表 2，引物序列参考 NCBI (http://www.ncbi.nlm.nih.gov)等网站和 Solignac 等(2003)报道。

1.2.2　PCR 反应条件：PCR 反应体系共20 μL：50 ng/μL DNA 模板 1 μL，10 × buffer 2.0 μL，25 mmol/L $MgCl_2$ 1.2～2.0 μL(因基因座而异)，10 mmol/μL 的 dNTP 0.5 μL，10 pmol/μL 的引物各 1 μL，5 U/μL *Taq* DNA 聚合酶 0.2 μL，用超纯水补足 20 μL。

扩增程序为 95℃预变性 5 min；95℃变性 50 s，50～60℃复性 50 s，72℃延伸 50 s，30 个循环；最终 72℃延伸 10 min。

1.2.3　基因型判定：特异的扩增产物经 8% 聚丙烯酰胺凝胶电泳，用银染法显影、定影。Kodak 成像系统拍照保存图片。利用 Kodak Digital Science ID Image Analysis Software 根据 PBR322/Ms PI Marker 为标准计算扩增片段的大小。

1.3　统计方法

1.3.1　遗传多样性：利用 Microsatellite-Toolkit 软件(Park，2001)计算各位点等位基因数、观察杂合度(*Ho*)与期望杂合度(*He*)。根据 Botstein 等(1980)的公式自行设计 Excel 表格，计算每一个群体每一个位点的多态信息含量(*PIC*)。

表 2　23 个微卫星座位的位置和单个引物的 PCR 反应条件

Table 2　The location of 23 microsatellite loci in chromosome or linkage group and PCR conditions

微卫星座位 Locus	GenBank 登录号 GenBank accession no.	染色体或连锁群 Chromosome or linkage group	镁离子浓度(mmol/L) Mg^{2+} concentration	退火温度(℃) Annealing temperature
AP243	AJ509466	Chr LG1	2.2	57.5
AG005a	AJ509722	Chr LG1	2.0	55
AP049	AJ509334	Chr LG1	2.2	55.6
AP226	AJ509455	Chr LG1	2.0	55.6
AC306	AJ509721	Chr LG2	2.0	55.6
AP274	AJ509486	Chr LG3	2.0	55
AP043	AJ509329/AJ509667	Chr LG3	2.2	56.5
AP313	AJ509504	Chr LG4	2.0	57
A113	AJ509290	Chr LG6	2.0	58.2
A107	AJ509287	Chr LG7	2.0	57
A024d	AJ509241	Chr LG7	2.0	57
A014	AJ509239	Chr LG8	2.0	55.6
A088	AJ509283	Chr LG8	1.6	58
AC011	AJ509637	Chr LG9	1.8	57
BI366	BI516839	Chr LG11	1.6	57
AT101	AJ509549	Chr LG12	2.0	55.6
AP297	AJ509499	Chr LG12	2.2	56.5
AP085	AJ509359	Chr LG12	2.0	56.5
AT003	AJ509505	Chr LG13	2.0	55.6
A035	AJ509251	Chr LG14	2.0	53.4
A028	AJ509244	Chr LG14	2.0	55
AP068	AJ509351	Chr LG15	2.0	55.6
AG005c	AJ509723	Chr LG16	2.0	55

1.3.2　遗传分化：根据 FSTAT 程序（Goudet, 2002）计算 *F*-statistics 固定指数，由 Benferroni 程序计算 *F*-statistics 的显著性。群体间的 *Fst* 值则通过 GENEPOP 程序（Raymond and Rousset, 1995）算得。群体间的 Reynolds 遗传距离则由 *Fst* 值算得，$DR = -\ln(1-Fst)$。*Fis* 值以及Ⅰ型错误的可能性被用来作为精确评价偏离 Hardy-Weinberg 平衡的指标，估计每一个位点偏离 Hardy-Weinberg 平衡群体数。

1.3.3　聚类分析：利用 PHYLIP 软件包进行聚类分析，估计群体的遗传结构（Felsentein, 1995）。基于 Nei 氏遗传距离运用 NJ 聚类法构建系统发生树（Saitou and Nei, 1987），应用自举检验（bootstrap test）估计系统中节点的自引导值（bootstrap value）。

1.3.4　遗传距离与地理距离的相关性：利用 GENEPOP 程序中 Rousset 距离（Rousset, 1997）分离法，结合 Mantel 氏检验分析群体间遗传距离和地理距离的相关性。

2　结果与分析

2.1　群体内遗传多样性

6 个中蜂种群中共检测到 329 个等位基因。各座位等位基因数、期望杂合度（*He*）、多态信息含量（*PIC*）列于表 3。单个座位的等位基因数从 5（A014）至 30（AP043），平均为 14.304。对于整个群体，AG005C 座位的期望杂合度和多态信息含量最低（$He = 0.528$；$PIC = 0.494$）；而座位 AT003 拥有最高的期望杂合度和多态信息含量（$He = 0.920$；$PIC = 0.913$）。各种群的平均观察杂合度和平均期望杂合度见表 4。就各中蜂种群而言，均显示出非

常高的期望杂合度，武夷山中蜂(0.428)最低，南昌中蜂(0.633)最高，所有中蜂种群的期望杂合度为0.792。

2.2 群体遗传分化

本研究利用群体 *F*-statistics(*Fit*, *Fst*, *Fis*)来衡量群体的遗传分化。6个中蜂种群的 *F*-statistics 情况见表3，对于所有种群而言，平均遗传分化系数为0.344($P<0.001$)。表5列出了种群间遗传距离和基因流(*Nm*)。黄山中蜂与宜兴中蜂之间的遗传距离最小，为0.243；武夷山中蜂与费县中蜂的遗传距离最大，为0.683。而基因流的变异范围在0.255(费县中蜂－武夷山中蜂)至0.910(宜兴中蜂－黄山中蜂)之间。

表3 23个微卫星标记的遗传多样性检测结果及 *F*-statistics

Table 3 Analysis of genetic diversity and the results from *F*-statistics analysis of 23 microsatellite markers

位点 Locus	等位基因数 Number of alleles	等位基因大小范围 Size range of alleles (bp)	期望杂合度 Expected heterozygosity	多态信息含量 *PIC*	总近交系数 $Fit=F$	种群分化系数 $Fst=\theta$	种群内的近交系数 $Fis=f$	偏离平衡的种群数 Number of populations deviated from Hardy-Weinberg equilibrium
AP243	18	98－366	0.886	0.875	0.638***	0.280***	0.498***	6
AG005a	19	82－192	0.763	0.744	0.591***	0.357***	0.363***	4
AP049	14	110－166	0.871	0.856	0.579***	0.267***	0.426***	5
AP226	11	222－268	0.827	0.804	0.639***	0.422***	0.375***	3
AC306	11	104－172	0.669	0.634	0.918***	0.536***	0.824***	4
AP274	13	79－184	0.770	0.738	0.625***	0.420***	0.353***	3
AP043	30	118－217	0.911	0.903	0.611***	0.212***	0.507***	6
AP313	8	332－384	0.740	0.710	0.933***	0.570***	0.843***	6
A113	16	172－240	0.884	0.872	0.623***	0.289***	0.469***	3
A107	12	124－250	0.831	0.811	0.922***	0.292***	0.890***	5
A024d	12	64－98	0.841	0.821	0.520***	0.363***	0.246***	5
A014	5	120－234	0.733	0.684	0.733***	0.636***	0.267***	4
A088	8	118－148	0.536	0.428	0.943***	0.492***	0.887***	5
AC011	27	91－299	0.919	0.912	0.563***	0.127***	0.500***	6
BI366	6	106－124	0.576	0.541	1.000***	0.565***	1.000***	5
AT101	10	249－349	0.836	0.813	0.928***	0.403***	0.880***	5
AP297	14	115－192	0.793	0.770	0.634***	0.400***	0.389***	3
AP085	20	172－238	0.895	0.885	0.637***	0.132***	0.582***	6
AT003	23	78－227	0.920	0.913	0.705***	0.237***	0.613***	5
A035	15	105－253	0.728	0.708	0.495***	0.312***	0.267***	4
A028	14	84－136	0.856	0.839	0.758***	0.162***	0.711***	6
AP068	17	119－192	0.906	0.897	0.707***	0.222***	0.624***	6
AG005c	6	98－116	0.528	0.494	0.910***	0.505***	0.818***	4
平均值 ± *SD* Mean ± *SD*	14.304 ± 6.462		0.792 ± 0.119	0.768 ± 0.136	0.710 ± 0.031***	0.344 ± 0.030***	0.558 ± 0.041***	4.739 ± 1.096

F-statistics 平均值来自 jack-knife。Mean estimates of *F*-statistics from jack-knife over loci. *** $P<0.001$.

表 4　中华蜜蜂各种群的等位基因数、平均观察杂合度与平均期望杂合度

Table 4　Mean number of alleles per locus and the average heterozygosity (*He* and *Ho*) for six populations of *Apis cerana cerana*

种群* Population	等位基因数 Number of alleles (mean ± *SD*)	平均期望杂合度 Average *He* (mean ± *SD*)	平均观察杂合度 Average *Ho* (mean ± *SD*)
NC	6.30 ± 3.34	0.6329 ± 0.0415	0.1873 ± 0.0110
HS	6.26 ± 3.08	0.6099 ± 0.0443	0.2865 ± 0.0111
TL	5.39 ± 2.21	0.6203 ± 0.0385	0.2308 ± 0.0157
FX	4.57 ± 2.35	0.5732 ± 0.0543	0.2526 ± 0.0173
YX	4.65 ± 3.13	0.4900 ± 0.0555	0.2871 ± 0.0107
WYS	4.09 ± 3.50	0.4280 ± 0.0630	0.1991 ± 0.0121
总计 Total	14.30 ± 6.46	0.7922 ± 0.0249	0.2452 ± 0.0051

* 种群代码同表 1 The population code is same as Table 1. 下同 The same below.

表 5　中华蜜蜂种群间的 Reynolds 遗传距离 D_R(上三角)及基因流动值 *Nm*(下三角)

Table 5　Reynolds' genetic distances, D_R (upper triangle) and the gene flow, *Nm* (lower triangle) between *Apis cerana cerana* populations

种群 Population	NC	HS	TL	FX	YX	WYS
NC	–	0.387	0.290	0.393	0.471	0.500
HS	0.528	–	0.266	0.373	0.243	0.497
TL	0.743	0.821	–	0.377	0.423	0.555
FX	0.520	0.553	0.546	–	0.531	0.683
YX	0.416	0.910	0.475	0.357	–	0.547
WYS	0.385	0.388	0.337	0.255	0.343	–

2.3　群体聚类分析

基于遗传距离，运用 NJ 聚类法构建群体间聚类图(图 1)。华东 6 个中蜂种群中，武夷山中蜂与南昌中蜂聚在一起后再与桐庐中蜂聚为一类，黄山中蜂和费县中蜂聚为一类。宜兴中蜂聚在所有中蜂的最外部。

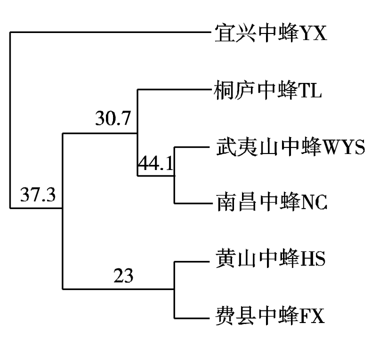


图 1　基于 Nei 氏遗传距离运用 NJ 聚类法获得的 6 个中华蜜蜂种群间的亲缘关系图

Fig. 1　Dendogram of phylogenetic relationships among six populations of *Apis cerana cerana* based on Nei's genetic distance, using neighbour-joining method

节点处的数值为重复 1 000 次所得到的自举百分率 Numbers at the nodes are percentage bootstrap values from 1 000 replications with resampled loci.

2.4　遗传分化与地理距离的关系

利用 GENEPOP 程序中 Rousset 距离分离法，得到回归系数 α 和 β，图 2 为 6 个中华蜜蜂种群两两之间地理距离 ln(d) 与 $Fst/(1-Fst)$ 间的关系图。图中斜线对应于回归公式 $Fst/(1-Fst) = -0.2804 + 0.8722\ln(d)$ 以及 Mantel 氏检验的结果(P = 0.104)，两者之间不存在显著的相关性。

3　讨论

3.1　群体遗传多样性

遗传杂合度和多态信息含量是衡量群体内遗传变异的重要指标，其值高低直接反映群体内个体的均匀度，数值高则遗传变异大，反之则变异小，而

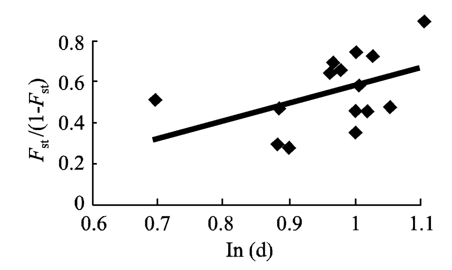


图 2 6 个中华蜜蜂种群两两之间地理距离 ln(d)与 $Fst/(1-Fst)$ 间的关系图

Fig. 2 Plot of relationship between geographical distance ln(d) and pairwise $Fst/(1-Fst)$ for six populations of *Apis cerana cerana*

遗传变异的大小又可衡量选择潜力的大小，变异大则选择潜力大，反之则选择潜力小。6 个中蜂种群杂合度在 0.4280(武夷山中蜂)到0.6329(南昌中蜂)之间，相对于 Jensen 等(2005)得出的欧洲黑蜂平均基因杂合度范围从 0.391(爱尔兰)到 0.525(谢菲尔德)，意大利蜜蜂较高为0.693(Jensen *et al.*, 2005)而言，本研究中的中蜂种群杂合度处于较高水平，表明华东各中蜂种群遗传多样性好，具有较大的选择潜力。按 Bostein 等(1980)提出的衡量基因变异程度高低的多态信息含量指标，本研究所采用的 23 个微卫星座位多态信息含量在 0.903(AP043)至 0.428(A088)之间变动(表 3)，21 个座位为高度多态性座位($PIC>0.5$)，2 个为中度多态性座位($0.25<PIC<0.5$)。因此，这 23 个微卫星座位可以作为评价中华蜜蜂遗传多样性的遗传标记。

等位基因数也是反映群体遗传变异的一个指标，尤其在保护遗传学研究中，有时更强调等位基因数目对种群的影响(Maudet *et al.*, 2002)。本研究的 23 个微卫星位点中，平均等位基因数为 18.696，这一方面说明本研究的样本量较为充分，另一方面也进一步说明这 23 对微卫星引物在这 6 个种群中所提供的多态信息含量较为丰富且基因频率分布较为均匀，用其分析遗传多样性具有较高的有效性和可靠性。各群体的等位基因数从 4.09(武夷山中蜂)6.30(南昌中蜂)不等，而 Jensen 等(2005)对欧洲黑蜂群体 11 个微卫星位点进行研究，发现来自于不同地点的欧洲黑蜂群体平均等位基因数在 3.9 和 6.6 之间，意大利蜂群体略高，平均每个位点 6.9 个等位基因，与本研究结果相近。

3.2 群体间遗传分化

一个自然群体由于各种原因往往会形成遗传组成上各具特色的亚群，这些组成总群体的亚群间的遗传差异就是亚群间的遗传分化。目前常用的估测遗传分化的方法有：*F* 统计量(或遗传分化系数，*Fst*)、基因变异系数(*Gst*)和 Shannon 信息指数。本研究采用 *F* 统计量法，*Fis* 是亚群内个体间由于非随机交配而导致亚群内杂合子的缺失，也称为群体内近交系数，*Fis* 值为显著正值时，则表示群体内存在较严重的近交现象，造成杂合子缺失；*Fis* 值为显著负值时，表示群体内存在远交，呈杂合子剩余(Weir and Cockerham, 1984)；*Fit* 反映总群体杂合子的缺失程度，也称为总群体近交系数；*Fst* 则反映各亚群内平均杂合度和总群体平均杂合度的差异程度，其值越大，表明亚群间遗传分化越明显。华东地区 6 个中蜂群体间存在着极显著的遗传分化，群体平均分化系数达到 0.344(表 3)。这说明有 34.4% 的遗传变异来自于群体间差异，而另外 65.6% 的遗传变异则由个体间的差异产生。总的来说，*Fis* 值较高，所有位点均显示极显著的杂合子缺失。由于这些位点 6 个群体的 *Fis* 值总是大于 0，所以两个原因可能导致其杂合子缺失：一是这些位点与具有选择意义的形态或生产性状一起受到选择的作用(遗传夹带效应)；另一种即是实验过程中存在“哑等位基因(null alleles)”。

3.3 6 个中蜂种群间遗传距离与地理距离的关联性

Barker (1994)认为遗传距离是研究群体遗传多样性的基础，可用来描述群体的遗传结构和品种间差异，反映所研究群体的系统进化，在决策保种计划时遗传距离的信息应作为群体遗传结构和品种分化最基本的指标。虽然对于特定的群体而言，品种间遗传距离和地理距离表现出相当程度的关联性，但 6 个中蜂种群间遗传距离和地理距离回归公式：$Fst/(1-Fst)=-0.2804+0.8722\ln(d)$ 以及 Mantel 氏检验的结果($P=0.104$)表明在中蜂群体的形成过程中，各自的地理分布并不是影响其群体遗传结构的决定因素。在很多地区交通条件不太便利的情况下，中蜂群体间的交流可以通过蜂王的婚飞来进行(陈盛禄, 2001)。在某些特定的自然条件或社会环境中，蜜蜂群体间的基因流动可能更加容易和可行。地理位置的相对隔绝是中国各地理种群中蜂形成重要因素之一，但地理因素并没有完全影响到中蜂群体间的基因流动。本研究结果所示，华东 6 个中蜂种群间遗传距离与地理距离之间并不存在显著联系。本研究中的中蜂皆来自于华东地区，

我国其他不同地区间的中蜂是否也是如此，还需要进一步的研究证实。

通过 6 个中蜂种群间遗传关系及其与地理距离的关联分析，提示在今后中国不同地域的中蜂群体种质资源保护利用工作中，尤其在决策保种计划时，不仅各个群体的地域分布是重要的参考因素之一，遗传距离的信息也要作为群体遗传结构和品种分化基本的指标。应当借助细胞遗传学和分子遗传学的手段，进一步探索品种的群体遗传结构和品种间的遗传关系，才能为品种资源更为有效的保护、开发和利用提供理论依据。

参 考 文 献（References）

Barker JSF, 1994. A global protocol for determining genetic distance among domestic livestock breeds. In: Proceedings of the 5th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. Guelph and Ontario, Canada. 21: 501 – 508.

Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW, 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am. J. Hum. Genet.*, 32: 314 – 331.

Canovas F, Delarua P, Serrano J, Galian J, 2008. Geographical patterns of mitochondrial DNA variation in *Apis mellifera iberiensis* (Hymenoptera: Apidae). *J. Zool Syst. Evol. Res.*, 46 (1): 24 – 30.

Chen SL, 2001. The Apicultural Science in China. China Agriculture Press, Beijing. 148 – 149. ［陈盛禄，2001. 中国蜜蜂学. 北京：中国农业出版社. 148 – 149］

Felsentein J, 1995. PHYLIP (Phylogeny Inference Package) Version 3.57c. Ph. D. Dissertation, University of Washington, Washington.

Franck P, Garnery L, Loiseau A, Oldroyd BP, Hepburn HR, Solignac M, Cornuet JM, 2001. Genetic diversity of the honeybee in Africa: Microsatellite and mitochondrial data. *Heredity*, 86(4): 420 – 430.

Goudet J, 2002. FSTAT version 2. 9. 3. 2. Ph. D. Dissertation, University of Lausanne, Lausanne.

Jensen AB, Palmer KA, Boomsma JJ, Pedersen BV, 2005. Varying degrees of *Apis mellifera ligustica* introgression in protected populations of the black honeybee, *Apis mellifera mellifera*, in Northwest Europe. *Molecular Ecology*, 14: 93 – 106.

Ji T, Chen J, Pan R, 2005. Comparison of concentration of honeybee DNA genome extracted in different ways. *Apiculture of China*, 56 (12): 10 – 11. ［吉挺，陈晶，潘瑞，2005. 在不同提取方法下蜜蜂基因组 DNA 浓度的比较. 中国养蜂，56 (12)：10 – 11］

Jiang YS, Liu WZ, Zhang CX, Qiao LY, Zhu WJ, Zhang GX, Guo CJ, 2007. AFLP analysis of genetic diversity of *Apis cerana* Fabricius distributed in different geographic areas in China. *Acta Entomologica Sinica*, 50(2): 144 – 152. ［姜玉锁，刘文忠，张春香，乔利英，朱文进，张桂贤，郭传甲，2007. 中国境内不同地理型东方蜜蜂遗传多样性的 AFLP 分析. 昆虫学报，50(2)：144 – 152］

Liu YH, Chen SL, Tong FD, Zhang CX, 2001. Genetic variability of MDH II gene in six subspecies of *Apis mellifera*. *Acta Entomologica Sinica*, 45(2): 188 – 192. ［刘艳荷，陈盛禄，童富淡，张传溪，2001. 西方蜜蜂六个亚种苹果酸脱氢酶 II 基因的遗传差异. 昆虫学报，45(2)：188 – 192］

Maudetr C, Miller C, Bassano B, Breitenmoser-Würsten C, Gauthier D, Obexer-Ruff G, Michallet J, Taberlet P, Luikart G, 2002. Microsatellite DNA and recent statistical methods in wild conservation management: Application in *Alpine ibex* [*Capra ibex* (*ibex*)]. *Mol. Ecol.*, 11: 421 – 436.

Park SDE, 2001. Trypanotolerance in West African Cattle and the Population Genetic Effects of Selection. Ph. D. Dissertation, University of Dublin, Dublin.

Raymond M, Rousset F, 1995. Population genetics software for exact test and ecumenicism. *J. Hered.*, 86: 248 – 249.

Rousset F, 1997. Genetic differentiation and estimation of gene flow from *F*-statistics under isolation by distance. *Genetics*, 145: 1 219 – 1 228.

Saitou N, Nei M, 1987. The neighbour-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.*, 4: 406 – 425.

Solignac M, Vautrin D, Loiseau A, Mougel F, Baudry E, Estou PA, Garnery L, Haberl M, Cornuet JM, 2003. Five hundred and fifty microsatellite markers for the study of the honeybee (*Apis mellifera* L.) genome. *Mol. Ecol. Notes*, 3(2): 307 – 311.

Weigend S, Romanov MN, 2001. Current strategies for the assessment and evaluation of genetic diversity in chicken resources. *World Poult. Sci. J.*, 57(3): 275 – 288.

Weir BS, Cockerham CC, 1984. Estimation *F*-statistics for the analysis of population structure. *Evol.*, 38: 1 358 – 1 370.

Yang GH, 2005. Harm of introducing the western honeybee *Apis mellifera* L. to the Chinese honeybee *Apis cerana* F. and its ecological impact. *Acta Entomologica Sinica*, 48(3): 401 – 406. ［杨冠煌，2005. 引入西方蜜蜂对中蜂的危害及生态影响. 昆虫学报，48(3)：401 – 406］

（责任编辑：袁德成）